



AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE TRÊS TESTES LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DA PARVOVIROSE CANINA

Miyabe, F.M.¹; **Pereira, F.L.**¹, Silva, A.P.¹, Beuttemüller, E.A.¹; Possatti, F.¹; Balbo, L.C.¹; Facimoto, C.T.¹; Favero, L.M.¹; Alfieri, A.A.¹; Alfieri, A.F.^{1*}

¹Laboratório de Virologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. *e-mail: aalfieri@uel.br

Saúde Única

Palavras-chave: PCR, hemaglutinação, imunocromatografia.

Introdução

A parvovirose canina é uma enfermidade infectocontagiosa aguda, que acomete principalmente cães jovens e caracteriza-se por manifestações gastroentéricas graves (PAES, 2016). O agente etiológico da doença é o Parvovírus canino (CPV), pertencente à família *Parvoviridae*. É um vírus DNA fita simples, não envelopado, que tem como principal característica biológica a dependência de células na fase S ou G2 do ciclo celular para sua replicação (MORAES; COSTA, 2007). Uma vez que a doença cursa com sinais clínicos semelhantes a outras enfermidades causadas por bactérias, parasitas intestinais ou outros vírus, são necessários testes específicos para o diagnóstico definitivo da enfermidade (MORAES; COSTA, 2007). Existem vários métodos laboratoriais para o diagnóstico de CPV, tais como microscopia eletrônica, ELISA, reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção do genoma viral; hemaglutinação (HA), fundamentado na capacidade do vírus aglutinar hemácias de suínos; e testes de imunocromatografia (IC), que se baseiam no uso de anticorpos específicos marcados com ouro coloidal, que caso haja formação de imunocomplexos, adquirem certa coloração visível a olho nu (MORAES; COSTA, 2007; PAES, 2016). Embora o isolamento em cultivo celular seja considerado o teste padrão, esta técnica é laboriosa e demorada, por isso, métodos mais rápidos e práticos têm sido amplamente utilizados (STROTTMANN et al., 2008). O objetivo desse trabalho foi avaliar comparativamente a eficácia de três técnicas laboratoriais (HA, IC e PCR) para a detecção do CPV em amostras de fezes.

Material e métodos

Foram utilizadas 20 amostras de fezes provenientes de cães atendidos no setor de Moléstias Infecciosas (MI) do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UDEL) no período de setembro de 2013 a março de 2014. Os cães



apresentavam sinais de gastroenterite hemorrágica e permaneceram internados no setor de isolamento da MI, recebendo hidratação e tratamento suporte.

Foram realizados três diferentes testes para a detecção do CPV nas amostras de fezes. O teste de HA foi realizado conforme descrito por Santos et al. (1997) e foram consideradas positivas as amostras que obtiveram títulos iguais ou superiores a 512. Para o teste de IC foi utilizado o kit comercial SensPERT Parvovirose[®] (Venco Saúde Animal, Londrina, PR, BR), seguindo as instruções do fabricante, a leitura dos testes foi realizada de cinco a dez minutos após a aplicação das amostras. O ácido nucleico viral das fezes foi extraído por meio da associação das técnicas de fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1) e sílica/isotiocianato de guanidina, com modificações descritas por Alfieri et al. (2006), e a PCR foi realizada conforme protocolo adaptado de Hong et al. (2007). Os produtos amplificados na PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta.

Resultados e Discussão

Na técnica de HA 40% (8/20) das amostras apresentaram títulos maiores que 512, sendo consideradas positivas. Na IC 60% (12/20) foram positivas. Já na PCR 100% (20/20) das amostras resultaram na amplificação do fragmento esperado (583pb), sendo todas positivas.

A HA é um método específico e rápido para a detecção do CPV nas fezes, que possibilita a determinação do título viral, sendo um teste quantitativo. No entanto, após os primeiros dias da enfermidade, o título viral fecal reduz devido à presença de anticorpos no lúmen intestinal que podem se ligar ao vírus, impedindo a hemaglutinação, fato que diminui a sensibilidade da técnica. Outra desvantagem é a necessidade de constante acesso a suínos saudáveis como doadores de hemácias (MORAES; COSTA, 2007; PAES, 2016).

O teste rápido de IC mostrou ser eficaz para a detecção do agente, apresentando maior sensibilidade que o HA. É um excelente método de diagnóstico, levando em consideração o baixo custo e a praticidade na rotina clínica, oferecendo maior segurança para o veterinário, principalmente em situações em que é preciso tomar decisões rápidas, uma vez que o resultado pode ser visualizado após poucos minutos, sem necessidade de qualquer instrumento para leitura, ao contrário dos demais testes (TINKY et al., 2015).

A PCR é uma técnica de alta especificidade e sensibilidade, sendo amplamente utilizada como método diagnóstico do CPV. Esta técnica é capaz de detectar títulos mínimos do agente em diversos tipos de amostras biológicas, mesmo com o vírus não mais infeccioso. Entretanto, essa técnica molecular exige infraestrutura laboratorial especializada, além de ter maior custo quando comparada a outras metodologias de diagnóstico (MORAES; COSTA, 2007).



Conclusões

Por se tratar de uma doença infectocontagiosa, o diagnóstico rápido e precoce da parvovirose canina é essencial para evitar a disseminação da doença. A PCR mostrou ser o método mais sensível quando comparada à HA e ao kit de IC, sendo mais indicada para uso em trabalhos de pesquisa, em laboratórios com infraestrutura especializada. Já os testes rápidos de IC são uma boa alternativa para o uso na rotina clínica, devido a maior praticidade e baixo custo.

Suporte Financeiro

CAPES, CNPq, Fundação Araucária

Referências

ALFIERI, A. A.; PARAZZI, M. E.; TAKIUCHI, E.; MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. F. Frequency of group A rotavirus in diarrheic calves in Brazilian cattle herds, 1998-2002. **Tropical Animal Health and Production**, v. 38, p. 521-526, 2006.

HONG, C.; DECARO, N.; DESARIO, C.; TANNER, P.; PARDO, M. C.; SANCHEZ, S.; BUONAVOGLIA, C.; SALIKI, J. T. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, p. 535-539, 2007.

MORAES, M. P.; COSTA, P. R. S. *Parvoviridae*. In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. 1. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2007. cap. 14, p. 377-392.

PAES, A. C. Parvovirose Canina. In: _____. **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. 1. ed. Rio de Janeiro: ROCA, 2016. cap. 72.

STROTTMANN, D. M.; SCORTEGAGNA, G.; KREUTZ, L. C.; BARCELLOS, L. J. G.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D. Diagnóstico e estudo sorológico da infecção pelo parvovírus canino em cães de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, mar./abr. 2008.

TINKY, S. S.; AMBILY, R.; NAIR, S. R.; MINI, M. Utility of a rapid immunochromatographic strip test in detecting canine parvovirus infection compared with polymerase chain reaction. **Veterinary World**, v.8, n.4, p. 523-526, 2015.